

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-103257

(43)Date of publication of application : 08.04.2003

(51)Int.Cl.

C02F 1/44

A61K 35/02

A61P 43/00

B01D 61/24

B01D 71/82

(21)Application number : 2001-304000

(71)Applicant : PIGEON CORP

(22)Date of filing : 28.09.2001

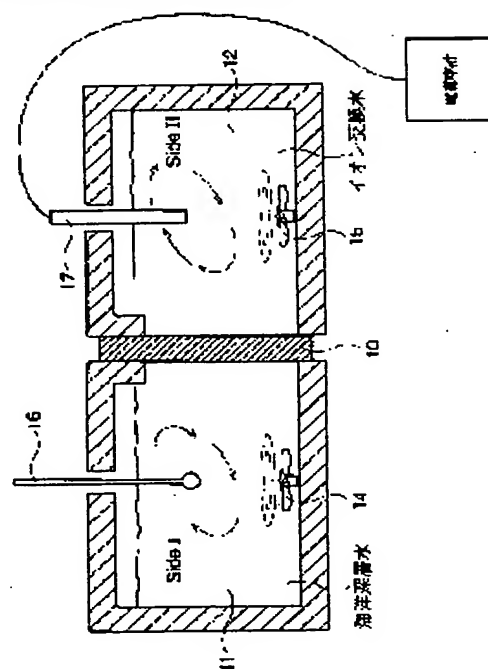
(72)Inventor : TAKANASHI MEGUMI  
KAKU TAKESHI

## (54) METHOD FOR SEPARATING CELL ACTIVATING MATERIAL FROM OCEAN WATER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To separate materials having excellent cell activity from ocean deep water without damaging the activity of cell activating materials.

SOLUTION: The method for separating an electrolyte from a nonelectrolyte is characterized in that the electrolyte is separated from the nonelectrolyte in such a way that ocean water containing the electrolyte and the nonelectrolyte is brought into contact with water lower in the concentration of the electrolyte than the ocean water through an electrically charged mosaic module, whereby the electrolyte in the ocean water is selectively transferred to the water.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office



1.

USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-103257

(P2003-103257A)

(43) 公開日 平成15年4月8日(2003.4.8)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テマコード<sup>\*</sup>(参考)

C 0 2 F 1/44

C 0 2 F 1/44

D 4 C 0 8 7

A 6 1 K 35/02

A 6 1 K 35/02

4 D 0 0 6

A 6 1 P 43/00

A 6 1 P 43/00

1 0 7

B 0 1 D 61/24

B 0 1 D 61/24

71/82

71/82

審査請求 未請求 請求項の数7 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号

特願2001-304000(P2001-304000)

(71) 出願人 000112288

ビジョン株式会社

東京都千代田区神田富山町5番地1

(22) 出願日

平成13年9月28日(2001.9.28)

(72) 発明者 高 梨 恵

静岡県富士市中里2608-31富士市浮島工業

団地 ビジョン ホームプロダクツ株式会

社内

(72) 発明者 賀 来 健

東京都千代田区神田富山町5番地1 ビジ

ョン株式会社内

(74) 代理人 100081994

弁理士 鈴木 俊一郎 (外3名)

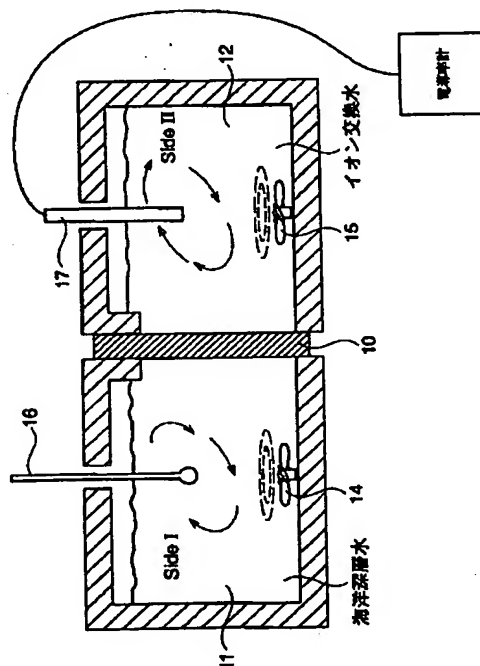
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 海洋水からの細胞活性化物質の分離方法

(57) 【要約】

【解決手段】 本発明は、電解質と非電解質とを含有する海洋水を、荷電モザイク膜を介して該海洋水よりも電解質濃度の低い水と接触させて、該海洋水中の電解質を、海洋水よりも電解質濃度の低い水に選択的に移動させて、電解質と非電解質とを分離することを特徴とする海洋水中の電解質と非電解質との分離方法である。

【効果】 本発明によれば、例えば海洋深層水から細胞活性化物質の活性を損なうことなく、優れた細胞活性を有する物質を分離することができる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 電解質と非電解質とを含有する海洋水を、荷電モザイク膜を介して該海洋水よりも電解質濃度の低い水と接触させて、該海洋水中の電解質を、海洋水よりも電解質濃度の低い水に選択的に移動させて、電解質と非電解質とを分離することを特徴とする海洋水中の電解質と非電解質との分離方法。

【請求項2】 上記荷電モザイク膜の厚さが0.1～30  $\mu\text{m}$ の範囲内にあることを特徴とする請求項第1項記載の分離方法。

【請求項3】 上記荷電モザイク膜中において、カチオン性ポリマーとアニオン性ポリマーとがそれぞれ独立にマイクロ分離したドメインを形成していると共に、各ドメインが荷電膜の表裏面を貫通していることを特徴とする請求項第1項記載の分離方法。

【請求項4】 上記荷電モザイク膜を形成するそれぞれのポリマードメインの大きさが1  $\mu\text{m}$ 以下であり、かつカチオン性ポリマーからなるドメインとアニオン性ポリマーからなるドメインとが互いに隣接していることを特徴とする請求項第1項記載の分離方法。

【請求項5】 上記荷電モザイク膜を介して海洋水中に含有される電解質の50重量%以上を、該海洋水よりも電解質濃度の低い水中に移行させることを特徴とする請求項第1項記載の分離方法。

【請求項6】 上記荷電モザイク膜を用いて電解質が分離された海洋水中に含有される非電解質が、細胞活性物質であることを特徴とする請求項第1項記載の分離方法。

【請求項7】 上記海洋水が、海洋深層水であることを特徴とする請求項第1項記載の分離方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の分野】本発明は、海洋水、特に海洋深層水中に含有されている細胞活性物質を、効率よく、かつその活性を低下させることなく無機塩などの電解質から分離する方法に関する。

## 【0002】

【従来技術】海洋水、特に海洋深層水中には種々の物質が含有されており、このような物質の中には繊維芽細胞など皮膚細胞を活性化する成分、好酸球、マクロファージなど免疫担当細胞を活性化する有益な物質が多数含まれている。しかしながら、海洋水には数%の塩化ナトリウムが溶存しており、さらにこの塩化ナトリウム以外にも多種多様な無機塩化物が溶存している。これらの無機塩化物は、細胞を活性化する作用は殆どないので、海洋水中の有効成分を得ようとする場合には、上記のような無機塩化物を除去する必要がある。

【0003】塩化ナトリウムなどの無機塩化物の除去には、海洋水を濃縮して析出した無機塩化物を濾過する方法、電気透析膜脱塩法、逆浸透脱塩法、限外濾過脱塩法

などの方法が利用可能である。これらの方法は、脱塩速度、脱塩コスト、脱塩効率などの点で優劣はあるが、それぞれの分野における目的等に鑑み、最も生産性が良い方法が採用されている。すなわち、上記いずれの方法を採用しても、分離される無機塩化物の純度、無機塩化物を除去するのに要するコストなどを別にすれば、塩化ナトリウム等の分離される無機塩化物の種類には変わりはなく、また、こうした無機塩化物が分離された海洋水にも特段の差はないと考えられている。

10 【0004】従って、海洋水から塩分を分離する方法としては、海洋水を濃縮し、析出した無機塩化物を除去する方法が、最もコスト的に有利であり、また、海洋水を濃縮する際に減圧にすれば、水の沸点が低下して効率的に海洋水を濃縮することができるので、海洋水を、特に減圧下で濃縮する方法が用いられることが多い。ところが、上記種々の方法で脱塩した海洋水について、細胞に対する活性を測定してみると、脱塩方法によって、海洋水に含有されている成分の細胞に対する活性が著しく異なることが判明した。

20 【0005】

【発明の目的】本発明は、海洋水、特に海洋深層水から脱塩する際に細胞活性物質の活性が低下することのない脱塩方法を提供することを目的としている。

## 【0006】

【発明の概要】本発明の海洋水からの細胞活性物質の分離方法は、電解質と非電解質とを含有する海洋水を、荷電モザイク膜を介して該海洋水よりも電解質濃度の低い水と接触させて、該海洋水中の電解質を、海洋水よりも電解質濃度の低い水に選択的に移動させて、電解質と非電解質とを分離することを特徴としている。

30 【0007】すなわち、本発明の分離方法によれば、荷電モザイク膜を介して海洋水と真水とを接触させることにより、海洋水中に含まれる無機塩化物などの無機塩を選択的に真水中に拡散させることができる。一方、海洋水中に含まれる非電解質は、荷電モザイク膜を透過することはできないので、海洋水中に残存する。その結果、海洋水は脱塩されると共に、非電解質は海洋水中に残存する。しかも、海洋水中に残存する非電解質の細胞に対する活性度は変動することがない。

40 【0008】すなわち、荷電モザイク膜を用いて脱塩を行う際には、海洋水に熱をかける必要もなく、さらに電流を流すことも必要とせず、電解質は、電解質の有するイオン性によって荷電モザイク膜のドメインを透過する。従って、荷電モザイク膜を使用した脱塩では、熱、電流などの外的なエネルギーの供給を必要とすることがなく、海洋水中に含有される成分が外部から供給されるエネルギーによって変性することがほとんどない。

50 【0009】特に本発明者は、従来から提唱されている海洋水に含有される細胞活性物質は稀少ミネラルであるとの説とは異なり、海洋水、特に海洋深層水に含有され

る細胞活性成分は、有機化合物であることを見いだして既に出願している。細胞活性物が有機化合物であるとすると本発明者の知見に基づけば、有機物質を加熱すると、熱変性を起こす可能性があり、また、電流、圧力などの外部エネルギーによってもこうした有機化合物は変性することがある。

【0010】従って、本発明におけるように電解質のイオン拡散力に基づいて脱塩する荷電モザイク膜を用いることにより海洋水、特に海洋深層水中に含有される細胞活性物質の特性を損なうことなく、効率よく脱塩をすることができ

【0011】

【発明の具体的な説明】次に本発明の海洋水から細胞活性物質を分離する方法について、具体的に説明する。なお、以下の説明は海洋水として海洋深層水を使用した場合を例にして説明するが、この海洋深層水は、海洋水の例であり、例えば水深200m程度までの温暖層の海洋水を用いた場合であっても同様の操作を行うことにより、含有される細胞活性物質の活性を低下させることなく、効率よく脱塩を行うことができる。

【0012】本発明で使用する海洋深層水は、太陽光が到達する水深200m以下の海底を非常にゆっくりと流れる海流であり、海面近くにある温暖層の海水と比較すると、稀少ミネラル分が豊富であると共に、太陽光が到達しない深海を流れることから、藻などによる光合成は行われず、従ってこれまでは海洋深層水中には有機物質はほとんど含有されていないと考えられていた。

【0013】しかしながら、本発明者は、海洋深層水中には比較的多量の有機物質が含有されていることを確認しており、これらの有機物質が、繊維芽細胞、好酸球などの細胞に対して高い活性を有することを見いだして既にこうした細胞活性物質に関する出願をしている（特願2000-398809号明細書、特願2001-242139号明細書など参照）。

【0014】このような海洋深層水に含有される有機物質を利用するためには、最初に、海洋深層水中に溶存している塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウムなどの無機塩化物を除去する必要がある。本発明では、海洋深層水の脱塩に、荷電モザイク膜を使用する。荷電モザイク膜による脱塩とは、海洋深層水中に含有さ

れる電解質と非電解質とを、膜透過速度の差を利用して分離する方法である。

【0015】図1に、本発明で使用する荷電モザイク膜の断面構造を模式的に示す。また、図2は、図1における膜左面（Side I）から右面（Side II）に向かってカチオン性の基が固定されている領域B（ドメインB）とアニオン性の基が固定されている領域A（ドメインA）とを部分的に拡大し、模式的に表わした図である。さらに図3は、このドメインAおよびドメインBを分子レベルで説明するための模式図である。

【0016】本発明で使用する荷電モザイク膜は、その機能を発現させるために膜の内部構造が以下のような基本的要件を満たしているものである。

(1) ミクロドメイン構造を有すること：すなわちカチオン性ポリマーとアニオン性ポリマーとがミクロ分離したドメインを形成していること。

(2) チャンネル構造を有すること：同種のイオンのポリマードメインが連続して膜表面から裏面に貫通しており、かつ両ドメインが互いに隣接していること。

(3) 微小性：各ドメインサイズがサブミクロンオーダーであること。すなわち、各ドメインサイズが、約1μm以下、好ましくは0.5μm以下であることが望ましい。

【0017】(4)膜に孔があいていないこと。

(5)強い電解性型イオン交換基で、高い固定電荷密度を有すること。

本発明で使用する荷電モザイク膜10は、図1、図2に示すように、膜左側（Side I）から右側（Side II）に向かってカチオン性の基が固定されている領域B（ドメインB）とアニオン性の基が固定されている領域A（ドメインA）が貫通し、両領域が相接している。この膜の左側、すなわちSide Iが海洋深層水であり、右側（Side II）がイオン交換水であるとする。膜のアニオン性ドメイン（ドメインB）の中にはカチオンが、カチオン性ドメイン（ドメインA）の中にはアニオンが、対イオンとして存在し、この両イオンは自由に移動できるようにされている。膜の左右部の液面に濃度差、圧力差があった時に自由に移動できる対イオンは膜の右部（Side II）に移動する。そして、新たに膜左面に塩溶液のイオンが吸着される。ここで、左部（Side I）にある海洋深層水の塩濃度よりも膜中のイオン濃度が高ければ、膜右部（Side II）に押し出され、塩は結果として透過したことになる。ここでドメインA、Bの幅が小さいほどイオンの移動距離が短くなりイオンの透過が早くなる。すなわち、膜左部（Side I）での両イオンの分離→膜透過→両イオンの会合の機構を考慮すると、ドメインサイズと連結性が透過速度を決定する。

【0018】本発明で使用する荷電モザイク膜としては、球状微粒子橋かけポリマー（マイクロゲル）の特性である等方連続性を利用してマイクロゲルを集積することで得られるポリマーアロイ類似構造を有する膜であることが好ましい。図3において、「○」はカチオン性球状粒子であり橋かけ構造によりカチオン性マイクロゲルを形成している状態が示されており、「●」はアニオン性球状粒子であり橋かけ構造によりアニオン性マイクロゲルを形成している状態が示されており、これらのポリマー粒子の間隙にはマトリックスポリマーが充填されている。

【0019】本発明で使用する荷電モザイク膜は上記のような構成を有するものであり、その厚さは、通常は0.1〜30μm、好ましくは0.5〜25μm、さらに

好ましくは5〜20  $\mu\text{m}$ の範囲内にある。このような荷電モザイク膜を形成するカチオン性ポリマーまたはアニオン性ポリマーは、1〜3級のアミノ基又は4級アンモニウム基、スルホン酸基、カルボン酸基、またはこれらのイオン性基が塩を形成している基を有するポリマーである。塩を形成している基の場合には、カチオン性基に対しては、例えば、硫酸、塩酸、リン酸、有機酸などのアニオン残基が使用され、またアニオン性基に対しては例えばアルカリ金属イオンなどのカチオンが使用される。

【0020】イオン性ポリマーの具体的な例としては、アニオン性ポリマーとして、ポリスチレンスルホン酸またはその塩、ポリエステルのスルホン化物またはその塩、ポリ2-(メタ)アクリロイルアミノ-2-メチル-1-ブタンスルホン酸またはその塩、ポリ2-(メタ)アクリルアミド-2-ブタンスルホン酸またはその塩、ポリ(メタ)アクリロイルオキシプロピルスルホン酸またはその塩、ポリスルホンプロピル(メタ)アクリレートまたはその塩、ポリ2-スルホエチル(メタ)アクリレートまたはその塩、ポリスルホエチル(メタ)アクリレートまたはその塩、ポリビニルスルホン酸またはその塩、ポリ(メタ)アクリル酸またはその塩、ポリスチレンマレイン酸共重合体またはその塩、あるいは、これらのポリマーを構成するモノマーの共重合体、他のモノマーとの共重合体を挙げることができる。また、カチオン性ポリマーの具体的な例としては、ポリビニルピリジンおよびその4級化合物、ポリ2-ヒドロキシ-3-(メタ)アクリロキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライド、ポリ(メタ)アクリル酸ジエチルアミノエチルまたはその塩、ポリ(メタ)アクリル酸ジメチルアミノエチルまたはその塩、あるいは、これらのポリマーを形成するモノマーの共重合体、他のモノマーとの共重合体を挙げることができる。

【0021】上記のようなポリマーから球状体を形成する方法としては、例えば、モノマーを含有する反応媒体から球状体を析出させる方法を挙げることができる。具体的には、ソープフリー重合、エマルジョン重合、懸濁重合、逆相重合、シード重合などの重合方法を挙げることができる。このような球状体は、架橋されていることが好ましい。ここで使用される架橋剤としては、例えば、ジビニルベンゼン、メチレンビス(メタ)アクリルアミド、ジ(メタ)アクリル酸エチレングリコール、ジ(メタ)アクリル酸-1,3-ブチレングリコール、その他、3〜4官能性の(メタ)アクリレートを挙げることができる。これらの架橋剤はポリマーを構成するモノマー10重量部に対して通常は20重量部以下であり、好ましくは0.5〜10重量部の量で使用される。本発明では上記のような架橋剤で架橋された球状体と架橋されていない球状体とを併用することが好ましい。本発明で使用する球状体の直径は、通常は0.01〜10  $\mu\text{m}$ 、好ま

しくは0.2〜1  $\mu\text{m}$ である。

【0022】本発明で使用される荷電モザイク膜は、上記のような球状体を使用して形成されるが、形成される膜を補強するために透液性支持体を用いることが好ましい。ここで使用される透液性支持体としては、織布、不織布、多孔質樹脂シート、多孔性セラミック焼結体、金属メッシュなどの多孔質体を用いることが好ましい。これらの多孔質体は、通常は0.01〜500  $\mu\text{m}$ 、好ましくは0.1〜100  $\mu\text{m}$ の厚さを有している。本発明で使用する荷電モザイク膜を製造するに際しては、使用するアニオン性ポリマーまたはカチオン性ポリマーの少なくとも一方が球状体であれば良い。

【0023】本発明で使用する荷電モザイク膜は、

(A) 一方のイオン性のポリマー球状体を透液性支持体に固定した後、固定された球状体の間隙に他のイオン性を有するモノマーを充填して重合させる方法、(B) 一方のイオン性のポリマー球状体と他のイオン性を有する直鎖状重合体溶液とを混合してキャスト成膜する方法、(C) 異種のイオン性を有するポリマー球状体の分散液をそれぞれ個別に調製し、これらの分散液を混合してキャスト成膜する方法、(D) 一方のイオン性を有するポリマー球状体の表面に、他方のイオン性を有する直鎖状重合体を化学的に結合させてコア-シェル型ポリマーとし、これをキャスト成膜しコアを破壊してコア同士を結合させる方法、(E) 異種のイオン性を有するポリマー球状体の分散液をそれぞれ調製し、これらを混合してキャスト成膜した後、その間隙に一方のイオン性ポリマーあるいはモノマーを充填し、モノマーを使用した場合に、この充填されたモノマーを重合させる方法、さらに上記(A)〜(D)の方法を適宜組み合わせる方法などにより製造することができる。

【0024】こうした2種類のポリマー球状体を有する架橋モザイク膜は、好ましくは架橋球状体と未架橋球状体とを組み合わせて使用し、これらを混在させてキャスト成膜後、溶剤あるいは圧力などを用いて膜中のポリマー球状体を破壊または変形させることにより同種のイオンの連結を確実にすると共に、膜の機械的強度を向上させることが好ましい。上記のような荷電モザイク膜10は、図4に示すように、Side I容器11とSide II容器12との間に、Side I容器11に充填される液体とSide I容器12に充填される液体とがこの荷電モザイク膜10を介して接触するように配置する。

【0025】このSide I容器11とSide II容器12とは、それぞれ攪拌装置14、15が配置されている。また、Side I容器11には、温度計16が、Side II容器12には、電導率計17が備えられている。Side I容器11には電解質が溶解された溶液が充填され、Side I容器12には、電解質濃度が、Side I容器11に含有される電解質の濃度よりも低い液体が充填されており、両者は、荷電モザイク膜10を介して接触している。具

体的には、Side I容器11には、海洋深層水が充填され、Side II容器12には、イオン交換水、純水など、通常は電解質を実質的に含有していない水が充填される。このようにSide I容器11に充填された海洋深層水、Side II容器12に充填された電解質を含有しない水は、攪拌装置14、15によって攪拌される。

【0026】Side I容器11に充填される海洋深層水中には、塩化ナトリウム、塩化カリウムなどの電解質が溶解されていると共に、本発明者の検討によれば、有機物質も溶解されている。Side I容器11に充填されている海洋深層水中に含有される塩化ナトリウム、塩化カリウムなどの電解質は、荷電モザイク膜10を選択的に透過して、Side II容器12に充填された電解質が溶解されていない水中に移行するが、有機物質は、この荷電モザイク膜10を透過することはできない。例えば、塩化カリウム(KCl)、塩化ナトリウム(NaCl)、およびサッカロースを含有する溶液を例にして荷電モザイク膜10の選択透過性を下記表1に示す。

【0027】

【表1】

表 1

	分子量	流速 ( $\times 10^4 \text{ mol/m}^2 \text{ hr}$ )	移動割合
KCl	74.6	43.0	1.00
NaCl	58.4	30.1	0.70
サッカロース	342.3	0.8	0.02

溶質濃度 0.1 モル/リットルで測定

【0028】上記表1に示すように、荷電モザイク膜を透過する塩化カリウムの流速を1.00とすると、塩化ナトリウムの流速は0.70であり、電解質は荷電モザイク膜を良好に透過することがわかる。一方、電解質ではないサッカロースの流速は、0.02であり、塩化カリウムの1/50程度である。このような非電解質の荷電モザイク膜を透過する量は、海洋深層水を濃縮して電解質を析出させて濾過する際に析出した無機塩に吸着して持ち出される非電解質の量よりも著しく少ない。

【0029】従って、電解質と非電解質とが混在する海洋深層水をSide I容器11に充填し、Side II容器12にイオン交換水を充填することにより、Side I容器11からは電解質が選択的に荷電モザイク膜10を透過してSide II容器12に移行するが、海洋深層水11中に含有される非電解質、例えば有機化合物は、荷電モザイク膜を透過することはできず、Side I容器11内に充填されている海洋深層水中に留まり、時間の経過と共に、Side I容器11内に充填されている海洋深層水中における電解質と非電解質の溶存比率が変化し、電解質の溶存比率が低くなる。

【0030】すなわち、本発明の荷電モザイク膜によれば、海洋水（特に海洋深層水）中に含有される電解質の50重量%以上、好ましくは75重量%以上、さらに好ましくは98重量%以上を、海洋水よりも電解質濃度の

低い水中に移行させることができる。また、このように荷電モザイク膜を用いることにより、電解質を熱、応力、電気などの外部エネルギーを付与することなく、電解質の有するイオン性によって分離することができることから、この荷電モザイク膜によって分離されない非電解質には、何のエネルギーも付与されず、したがって、非電解質が電解質の分離に伴う操作によって変性する虞を著しく低減させることができる。

【0031】従って、上記のような荷電モザイク膜を用いて電解質を分離した海洋深層水から得られた皮膚細胞活性成分例えば繊維芽細胞の活性成分、免疫担当細胞、例えば好酸球の活性成分などの有機物質は、加熱濃縮濾過、電気透析膜脱塩法、逆浸透脱塩法、限外濾過脱塩法などにより脱塩した海洋深層水から得られる有機物質と比較すると、細胞に対する相対的な活性化度が高い値を示す。

【0032】なお、上記においては、海洋深層水から初期の段階で脱塩する際に荷電モザイク膜を使用した例を示して、このように脱塩された海洋深層水中に含有される細胞活性物質の活性を比較したが、海洋深層水から無機塩を分離する工程は、このような初期の段階以外例えば有機活性成分の濃縮などにも存在することがあり、こうした場合においても荷電モザイク膜を使用することにより、より高い細胞活性を有する物質を得ることができる。

【0033】

【発明の効果】本発明では、海洋深層水の脱塩に荷電モザイク膜を用いており、このようにして荷電モザイク膜を使用して脱塩を行うことにより、脱塩された海洋深層水は細胞に対して高い活性を示した。

【0034】

【実施例】次に、本発明の実施例および比較例を示して、荷電モザイク膜を用いて脱塩した海洋深層水の細胞に対する活性が高いことを示すが、本発明はこれら実施例および比較例によって限定的に解釈されるべきではない。なお、以下に示す本発明の実施例および比較例において使用した海洋深層水は、図5に示すように、海洋深層水を濾過して減圧蒸留濃縮し析出物を濾過した濾液を濃縮したものを分割してそれぞれの脱塩法に用いたものであり、脱塩後の濃縮率〔濃縮率(%)=(テスト時の海洋深層水脱塩濃縮液量/脱塩濃縮実施前の海洋深層水量) $\times 100$ 〕が実施例1および比較例1、2では最終的に5%になるように操作し、実施例2および比較例3、4では最終的に濃縮率が0.5%になるように操作した。

【0035】

【実施例1】図4に示すようにSide I容器11とSide I容器12を用意し、両容器の間に荷電モザイク膜を配置した。この荷電モザイク膜は、その厚さ5  $\mu\text{m}$ であり、海洋深層水およびイオン交換水に対する接触面積を



113 cm<sup>2</sup>に設定した。なお、この荷電モザイク膜のKClに対して流束、 $4.0 \times 10^{-2} \text{ mol/m}^2 \text{ h}$ の分離能力を有している。

【0036】Side I容器11に海洋深層水1.0リットルを充填し、Side II容器12にイオン交換蒸留水1.0リットルを充填した。それぞれの容器にはマグネチックスターラーが配置されており、海洋深層水およびイオン交換水を攪拌した。Side I容器11に充填した海洋深層水とSide II容器12に充填したイオン交換水とを荷電モザイク膜を介して10℃で接触させ、12時間毎にSide II容器12にイオン交換蒸留水を入れ替える。最後にSide I容器11に充填した海洋深層水の電導率を測定して残りの電解質量を求め、海洋深層中の電解質濃度が0.02重量%になるまで脱塩した。

【0037】こうして脱塩された海洋深層水を、元の海洋深層水の容積の5%まで濃縮し、初期の細胞活性物質を得た。この細胞活性物質を用いて繊維芽細胞活性を測定した。なお、この細胞活性試験の際の塩分濃度はリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩組成成分でリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩分濃度の0.9重量%に調整した。また、その結果、減圧蒸留濃縮により脱塩した海洋深層水から得られた細胞活性物質についてリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)を用いて測定したコントロールの細胞活性を100とすると191.30の細胞活性を示した。

【0038】結果を表2および図6に示す。

\*  
表  
2

試験サンプル	深層水濃縮率%	細胞相対活性%
コントロール(PBS-)		100.00
電気透析脱塩 1 (塩分→0.6%)	5	134.78
電気透析脱塩 2 (塩分→0.02%)	5	109.57
モザイク荷電膜脱塩濃縮後(塩分→0.02%)	5	191.30

【0043】

【実施例2】実施例1において、脱塩された海洋深層水の濃縮率を元の海洋深層水の容積に対して5%から0.5%に変えた以外は同様にして初期の細胞活性物質を得た。この細胞活性物質を用いて繊維芽細胞活性を測定した。なお、この細胞活性試験の際の塩分濃度はリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩組成成分でリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩分濃度の0.9重量%に調整した。

【0044】その結果、減圧蒸留により脱塩した海洋深層水から得られた細胞活性物質についてリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)を用いて測定したコントロールの細胞活性を100とすると233細胞活性を示した。結果を表2および図7に示す。

【0045】

【比較例3および4】実施例2において、荷電モザイク膜を用いた脱塩の代わりに限外濾過脱塩装置(東ソー(株)製ULTRACENT膜)を用いて海洋深層中に含有され

\*【0039】

【比較例1および2】実施例1において、荷電モザイク膜を用いた脱塩の代わりに電気透析膜(旭化成(株)製AC-110膜、透析装置マイクロアナライザーS1)を用いて海洋深層中の電解質濃度を0.06重量%(比較例1)および0.02重量%(比較例2)になるまで脱塩した以外は実施例1と同様にして細胞活性物質を得た。なお、脱塩には電気透析装置を使用した。

【0040】得られた細胞活性物質を用いて繊維芽細胞活性を測定した。なお、これらの細胞活性試験の際の塩分濃度はリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩組成成分でリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩分濃度の0.9重量%に調整した。その結果、電気透析により脱塩した海洋深層水から得られた細胞活性物質についてリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)を用いて測定したコントロールの細胞活性を100とすると電解質濃度が0.06重量%まで脱塩した深層水細胞活性物質が134.78の細胞活性を示し(比較例1)、電解質濃度が0.02重量%まで脱塩した深層水細胞活性物質が109.57の細胞活性を示した(比較例2)。

【0041】これらの値は、コントロールよりも高い値であるが、荷電モザイク膜を用いて脱塩して得られた細胞活性物質よりも低い値であった。結果を表2および図6に示す。

【0042】

【表2】

る成分の平均分子量サイズ10000以下(比較例3)、平均分子量サイズ30000以下(比較例4)をそれぞれ分離した以外は実施例1と同様にして細胞活性物質を得た。

【0046】得られた細胞活性物質を用いて繊維芽細胞活性を測定した。なお、これらの細胞活性試験の際の塩分濃度はリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩組成成分でリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)の塩分濃度の0.9重量%に調整した。その結果、限外濾過により脱塩した海洋深層水から得られた細胞活性物質についてリン酸バッファー生理食塩水(PBS-)を用いて測定したコントロールの細胞活性を100とすると平均分子量サイズ10000以下を分離した深層水細胞活性物質は213の細胞活性を示し(比較例3)、平均分子量サイズ30000以下を分離した深層水細胞活性物質が202細胞活性を示した(比較例4)。

【0047】これらの値は、コントロールよりも高い値であるが、荷電モザイク膜を用いて脱塩して得られた細胞活性物質よりも低い値であった。結果を表3および図



7に示す。

【0048】

\*【表3】

\*

表 3

試験サンプル	深層水濃縮率%	細胞相対活性%
コントロール(PBS-)		100
限外濾過脱塩濃縮後 1 (分子量サイズ1万)	0.5	213
限外濾過脱塩濃縮後 2 (分子量サイズ3万)	0.5	202
モザイク荷電膜脱塩濃縮後	0.5	233

【0049】これらの結果から、荷電モザイク膜を用いて脱塩することにより得られる細胞活性物質は、他の方法で脱塩した海洋深層水よりも著しく優れた細胞活性を有していることがわかる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、本発明で使用される荷電モザイク膜を模式的に示す断面図である。

【図2】 図2は、図1に示した荷電モザイク膜の部分拡大図である。

【図3】 図3は、図1に示した荷電モザイク膜を分子レベルで説明するための模式図である。

【図4】 図4は、荷電モザイク膜を用いた脱塩装置の※20

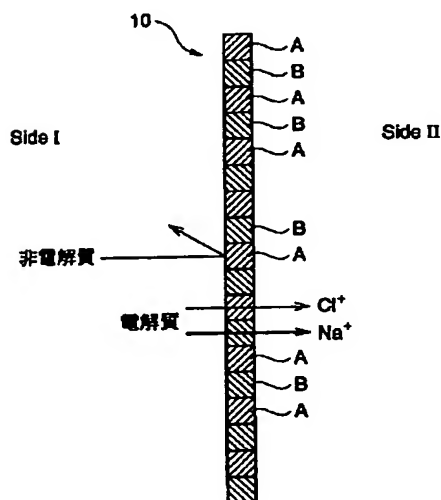
※例を模式的に示す図である。

10 【図5】 図5は、本発明の実施例および比較例で脱塩する際の操作を示すフローチャートである。

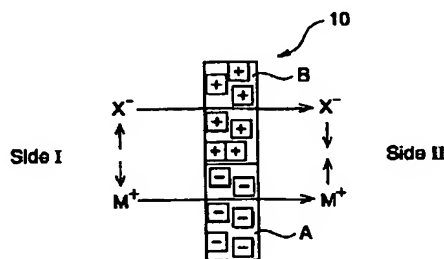
【図6】 図6は、荷電モザイク膜を用いた実施例1で得られた物質の細胞活性と電気透析脱塩法を用いた比較例1、2で得られた物質の細胞活性を示すグラフである。

【図7】 図7は、荷電モザイク膜を用いた実施例1で得られた物質の細胞活性と限外濾過装置を用いた脱塩法で採用した比較例1、2で得られた物質の細胞活性を示すグラフである。

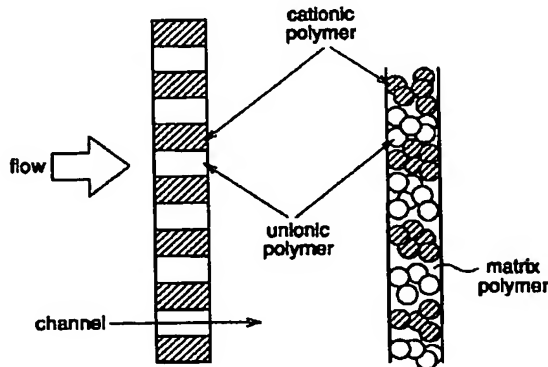
【図1】



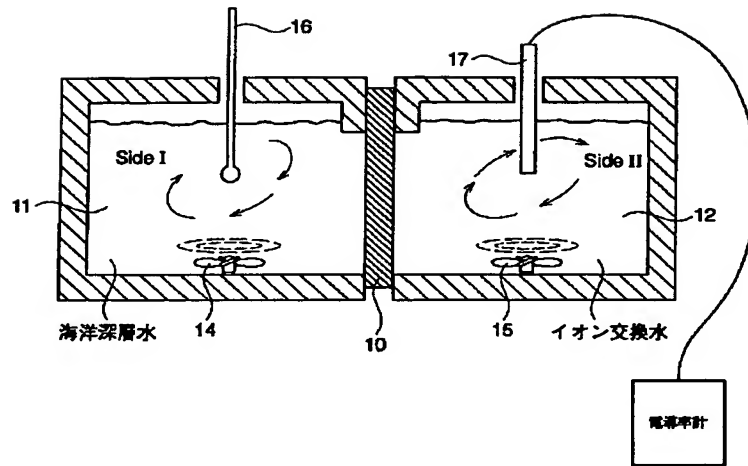
【図2】



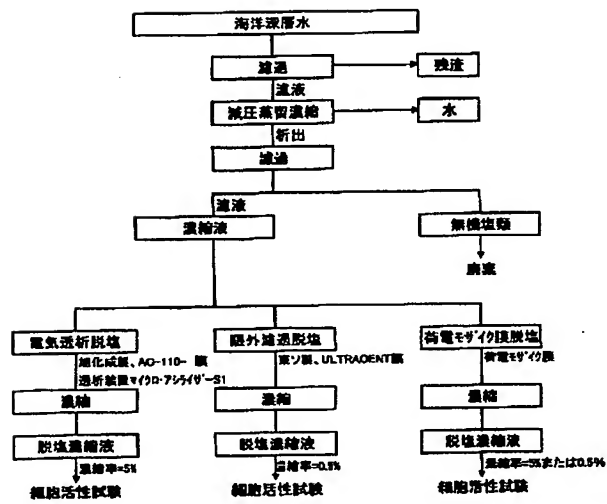
【図3】



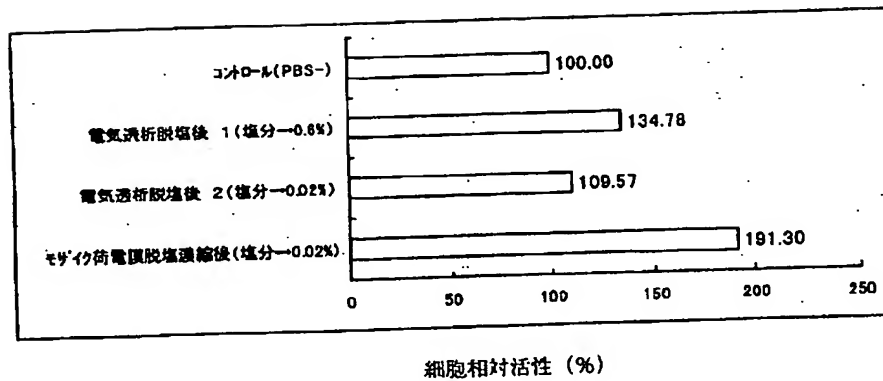
【図4】



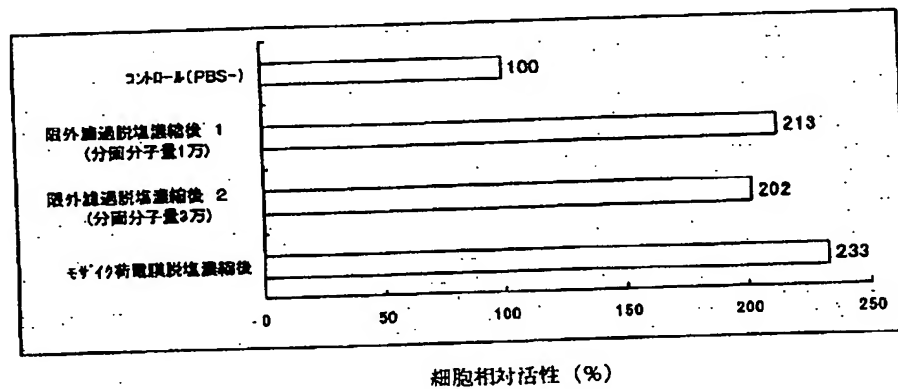
【図5】



【図6】



【図7】



フロントページの続き

Fターム(参考) 4C087 AA01 AA02 AA04 BA01 NA14  
 ZB22  
 4D006 GA12 KA11 MA03 MA11 MA31  
 MA40 MC35 MC37 MC48 MC71X  
 MC72X MC74X MC78X NA50  
 NA54 PB03 PB70

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**